Istituto di Patologia speciale della R. Università di Roma
diretto dal Prof. A. BIGNAMI

Dott. M. ALMAGIÀ

Ricerche sperimentali sul rapporto tra la funzione delle ghiandole sessuali e lo sviluppo dei tumori.

Estratto dal Bollettino della R. Accademia Medica di Roma
Anno XXXVIII - Fascicolo V-VIII



ROMA
Tipografia F. Centenari
1912

Istituto di Patologia speciale della R. Università di Roma
diretto dal Prof. A. BIGNAMI

Dott. M. ALMAGIÀ

Ricerche sperimentali sul rapporto tra la funzione delle ghiandole sessuali e lo sviluppo dei tumori.

Estratto dal Bollettino della R. Accademia Medica di Roma
Anno XXXVIII - Fascicolo V-VIII



ROMA
Tipografia F. Centenari
—
1912

Le ricerche sui tumori trapiantabili degli animali, pur non potendo sostituirsi in tutto e per tutto allo studio dei tumori e dell'uomo, coi quali hanno molte analogie, ma anche delle dissomiglianze, si prestano allo studio dei problemi inerenti lo sviluppo dei tumori, in quanto è possibile influire su di esso modificando alcuni dei fattori che gli presiedono.

Ormai sono note ed accertate, sopratutto per merito della scuola del Bashford, le variazioni che uno stesso tumore può presentare pur sviluppandosi in una medesima specie e razza di animali e sono state poste in rilievo anche periodiche oscillazioni nello sviluppo di un tumore, senza che dei fatti osservati si sia finora potuto dare spiegazioni soddisfacenti. Si è studiata l'influenza delle razze, dell'età, dell'alimentazione, ecc., ma, ripeto, malgrado le osservazioni le più accurate e la messe grandissima dei fatti raccolti, non ancora è possibile rendersi ragione di tutte le variazioni che si osservano nello sviluppo di uno stesso tumore.

Io ho avuto campo di seguire e di studiare da più che due anni nei successivi passaggi, un adenocarcinoma del topo inviatomi dal prof. Lewin, ed ho cercato di mantenermi più che possibile costante nelle condizioni di esperimento, sia per quanto concerne il volume del tumore da innesto, che la tecnica dell'innesto stesso, sia per la razza ed il peso dei topi, sia per la loro alimentazione; eppure non ho potuto evitare tutte quelle incostanti già riscontrate e segnalate da altri. Però un fatto ha attratto maggiormente la mia attenzione e cioè il repentino, temporaneo abbassamento nella percentuale di attecchimento del tumore, avvenuto contemporaneamente in alcune mie serie di topi innestati e in parecchie serie preparate da altri sperimentatori, che con lo stesso stipite di tumore lavoravano nello stesso Isti-

tuto. Eppure i topi appartenevano sempre alla stessa razza; la tecnica di iniezione era invariata, come invariato era il nutrimento degli animali. Una sola circostanza potei riscontrare variata e cioè il passaggio da una stagione in un'altra, dall'inverno alla primavera; il che da noi succede abbastanza repentinamente, quasi senza transizione. Coincidente con la primavera è la fregola degli animali ed infatti io potei convincermi dalla grande prolificità che seguì, di quanto efficacemente lo stimolo fosse stato risentito dagli animali in esperimento. Potei però subito escludere che il predominare di femmine gravide avesse potuto determinare la variazione nell'attecchimento e nello sviluppo del tumore, in quanto lo stesso limite di abbassamento si era verificato in alcune serie costituite di soli maschi: nè potei ammettere una repentina caduta nel potere di attecchimento inerente al tumore stesso, o alla stagione, perchè, trascorso il periodo di fregola, pure mantenendosi il caldo, l'attechimento tornò normale. Dunque il fattore più logicamente imputabile della variazione osservata, restava la iperfunzionalità delle ghiandole sessuali; iperfunzionalità di esse come organi a secrezione esterna e sorgeva naturalmente il dubbio che da un eventuale squilibrio insorgente tra la funzione di secrezione interna e la funzione di secrezione esterna derivasse la limitazione o la soppressione di uno dei fattori riconosciuti necessari per l'equilibrio regolatore dello sviluppo dell'organismo e supponibile utile o necessario per lo sviluppo dei tessuti neoplastici, tanto simili a quelli normali.

Negli animali, che, come nel caso da me citato, si trovavano in periodo di fregola, è lecito supporre che la iperfunzionalità come organo di secrezione esterna fosse a detrimento della funzione interna e gli animali si trovassero quindi rispetto al tumore in condizioni ravvicinabili a quelle di animali castrati. Ecco perchè io, onde apprezzare il valore del mio dubbio, volli tentare l'inoculazione del tumore negli animali castrati.

ESPERIENZE.

Come ho già detto, nelle mie esperienze mi valsi come materiale di innesto di un adenocarcinoma del topo, inviatomi dal prof. Lewin. Questo tumore, pur avendo una percentuale normale di attecchimento alta (dall'80 al 100 per cento), ha un periodo di latenza piuttosto lungo e lento ne è lo sviluppo. Queste condizioni a me parvero favorevoli per lo studio del problema che mi interessava : perciò prescelsi tale stipite ad altri di maggiore virulenza. Adoperai topi sempre della stessa razza ma di due allevamenti, avendo cura di corredare ogni serie di esperienze, di numerosi controlli. Per la tecnica di innesto del tumore mi attenni al sistema della poltiglia di tessuto spinta sotto cute attraverso un tubetto di vetro. Mi valsi del controllo anatomo-patologico ogni volta che mi fu possibile.

Esperienza I. — *30 gennaio 1912.* Innesto 12 topi maschi. Dopo 10 giorni si palpa il piccolo tumoretto in via di sviluppo; dopo 15 giorni lo si vede designarsi sotto la cute. L'attecchimento è positivo in 9 topi, negativo in 3.

22 febbraio. Nei 9 topi ad attecchimento positivo il tumore ha, tranne in uno nel quale è poco evidente, lo sviluppo di circa una nocciuola; in alcuni si hanno 2 noduli. Castro 4 topi scegliendoli con tumore bene sviluppato.

29 febbraio. Il tumore seguita a sviluppare rigogliosamente nei topi di controllo; in alcuni ha già la grossezza di una noce e più, tanto che ne utilizzo alcuni per innesto di nuove serie. Nei topi castrati, pur progredendo, i tumori sono meno sviluppati che nei controlli. Dei tre topi precedentemente negativi all'attecchimento del tumore, due mostrano ora un piccolissimo tumoretto, che però regredisce completamente nei giorni seguenti.

4 marzo. Nei controlli rimasti (2) il tumore è molto voluminoso; nei castrati, invece, in uno c'è stata regressione completa del tumore,

negli altri tre lo sviluppo è rimasto molto inferiore a quello dei oontrolli.

9 marzo. I controlli sono già morti. Dei castrati uno è negativo, un altro ha tumore grosso quanto una nocciola, gli altri due hanno tumore ormai sviluppato quanto una noce, ma gli animali, non solo non sono ancora divenuti cachettici come a parità di sviluppo del tumore succede nei controlli, ma si mantengono ben nutriti, a pelo lucido e liscio, vispi.

30 marzo. Lo sviluppo del tumore nei tre topi è seguitato fino a raggiungere dimensioni enormi e gli animali sono morti a distanza di giorni l'uno dall'altro, pur seguitando a non essere cachettici nemmeno nell'ultimo periodo.

25 aprile. Dei tre topi controlli senza sviluppo di tumore, in uno osservo oggi e cioè dopo tre mesi circa di latenza, un piccolo nodulo al fianco destro e cioè in rispondenza al punto di innesto. Lo sviluppo di questo tumoretto seguita poi lento ma progressivo tanto che dopo un mese è più grosso che una noce. Nel topo castrato nel quale si è avuta la regressione del tumore, questo non si è più sviluppato affatto.

Analizzando i risultati di queste esperienze si vede che la castrazione eseguita a sviluppo già iniziato del tumore, fa risentire la propria influenza sullo sviluppo di esso ritardandone la evoluzione e in qualche caso arrestandone lo sviluppo.

Esperienza II. — *15 febbraio 1912*. Innesto con tumore 6 topi castrati già fino dallo scorso giugno e 14 topi normali.

26 febbraio. Il tumore è già visibile in quasi tutti i controlli. Negli animali castrati nulla.

4 marzo. Dei 14 controlli 12 sono positivi e 2 negativi.

13 marzo. Lo sviluppo dei tumori nei controlli seguita progressivo con il solito decorso. I topi castrati si mantengono negativi anche in seguito.

Il risultato di questa esperienza non poteva riuscire più probativo per dimostrare l'influenza dei testicoli sullo sviluppo del tumore; però ripetei un'altra serie di ricerche, per timore che i topi castrati fino dal giugno fossero stati troppo vecchi e ciò avesse potuto influire sul risultato delle esperienze.

Esperienza III. — *29 febbraio 1912*. Innesto con tumore 3 topi normali e 16 topi castrati parte il 22 e parte il 24 febbraio. Un con-

trollo muore dopo pochi giorni per peritonite e ascessi settici si sviluppano in altri topi. In uno dei due controlli il tumore cresce rigoglioso e il topo muore cachettico il 4 aprile. Il 13 marzo reinnesto nel peritoneo 4 topi tra quelli castrati e che erano rimasti negativi all'innesto del 29 febbraio e 5 ne innesto normali per controllo. In questi il tumore attecchisce in 4; nei castrati in uno, sviluppando lentamente. Tra i topi castrati e innestati solo il 20 febbraio 3 sono morti senza tumore nei primi giorni dall'innesto; degli altri 9, in 3 si sviluppa tumore dopo un periodo di latenza molto protratto e rimanendo sempre arretrati nello sviluppo di fronte al controllo; 6 rimangono negativi.

Tenendo conto solo dei topi che hanno vissuto un tempo sufficientemente lungo per poter dare valore all'osservazione, si concludc che mentre i controlli hanno avuto un attecchimento di 5 su 7, invece i castrati hanno avuto un attecchimento solo di 4 su 13.

Esperienza IV. — *4 marzo 1912*. Innesto con tumore 18 topi normali maschi. Il 9 marzo ue castro 7.

16 marzo. Muore uno dei castrati; all'autopsia non si trova traccia di tumore, mentre nei controlli questo già comincia ad essere visibile.

27 marzo, Dei controlli che sono 11, 9 sono positivi con tumoretti da una nocciuola a poco più. Tra i castrati, che sono 4 (altri due sono morti senza tumore nei giorni scorsi) 3 sono negativi ed uno ha due noduli di tumore, ognuno grosso quanto una nocciuola. Nei controlli la evoluzione del tumore prosegue come al solito senza regressione e gli animali muiono in tempo vario tra la seconda metà di aprile ed i primi di maggio, invece nel topo castrato e positivo, uno dei noduli regredisce completamente e l'altro si riduce di molto tanto che verso il 20 di maggio ha il volume di un pisello.

Anche questa ricerca conferma il minore attecchimento e sviluppo dei tumori nei topi castrati in confronto con i normali. Interessante è la regressione dei tumori nell'unico topo castrato positivo in quanto si vede che anche quando l'organismo non abbia per effetto della castrazione una incompatibilità assoluta per lo sviluppo del tumore, pure questo vi incontra condizioni meno favorevoli di vita.

Esperienza V. — *6 aprile 1912*. Innesto di 8 topi normali, 7 castrati dal giorno 20 marzo e 4 che, castrati il 24 febbraio, erano rimasti negativi a 2 precedenti innesti,

3 maggio. Nei controlli 6 sono positivi e 2 negativi. Nei castrati del 25 marzo 5 sono negativi e 2 positivi. I 4 castrati dal febbraio sono negativi.

17 maggio. Uno dei controlli con tumore è morto; degli altri, 2 sono sempre negativi, e in 5 il tumore prosegue nello sviluppo che è già abbastanza considerevole. Tra i castrati 6 sono negativi ed uno è positivo: quindi in uno dei 6 positivi il giorno 3, il tumore è regredito. Dei 4 castrati del febbraio, 3 sono negativi ed uno è positivo, ma con tumore piccolo e già ulcerato.

Se si sommano i risultati delle cinque serie di esperienze riportate, da una parte conteggiando i controlli, dall'altra gli animali castrati, si rileva che su 52 topi normali, 42 furono positivi all'attechimento del tumore e 10 furono negativi, mentre una proporzione inversa si ebbe nei castrati, dei quali su 30,24 furono negativi e sei positivi. Il risultato è evidente, tanto più se si tiene conto del fatto che anche attecchendo il tumore in qualcuno degli animali castrati, lo sviluppo ne fu quasi sempre più lento e talvolta si ebbe regressione. Al fatto che in alcuni animali il tumore attecchisca e sviluppi malgrado la castrazione, si potrebbe contrapporre quello a percentuale eguale degli animali normali e ad attecchimento negativo. Per i primi si può però avanzare due ipotesi: o si ammette che dalle ghiandole sessuali parta uno stimolo formativo, ma che questo non sia loro esclusivo e parta anche da altri organi, e allora si può supporre che in alcuni animali questi siano sufficienti per influire sullo sviluppo del tumore; oppure supponiamo che la funzione delle ghiandole sessuali non agisca sul tumore mediante un'azione diretta attivatrice del suo sviluppo, ma agisca invece come freno di azioni inibitrici che partono da altri organi e allora non solo si può darsi ragione del perchè la loro presenza agevoli lo sviluppo del neoplasma, ma altresì delle eccezioni riscontrate, poichè in alcuni animali potrebbero queste influenze inibitorie essere meno intense e il tumore seguiterebbe nel suo sviluppo malgrado la soppressione della antagonista ghiandola sessuale.

A questo modo di vedere corrispondono varie nozioni di re-

cente acquisizione sulla reciproca influenza che tra di loro esercitano la ghiandole a secrezione interna.

Come complemento delle esperienze riferite io debbo dire di iniezioni di estratti testicolari fatte ad alcuni topi portatori di tumore, nei quali le iniezioni, contrariamente a quanto è stato osservato con altri organi, non hano determinato arresto nello sviluppo del tumore, chè anzi forse lo hanno esagerato. Io ora sto ricercando se iniezioni di estratti testicolari fatte in animali castrati e che già si sono dimostrati negativi all'attecchimento del tumore, influiscano invece a ricondurre gli animali castrati nelle condizioni dei normali. Malgrado però le poche eccezioni riscontrate, le mie esperienze mi autorizzano a concludere per una influenza delle ghiandole sessuali, favorevole allo sviluppo dei tumori. Già nel 1909 v. Graf (1), pubblicò delle ricerche fatte con lo stesso intento ed ottenne risultati negativi; però egli si astenne dal dedurne conclusioni assolute ed anzi emise l'ipotesi che adoperando uno stipite di tumore meno virulento di quelli da lui usati e variando la tecnica, forse si sarebbe potuto ottenere risultato positivo; e previde giusto, in quanto la ragione dei risultati positivi delle mie ricerche, sta appunto nel fatto di avere io usato, come dissi in principio, un tumore idoneo alla esperienza. Difatti quando anch'io volli estendere le ricerche adoperando un sarcoma del ratto che in più serie di animali mi aveva dato il 100 per cento di attechimento, sviluppando molto rapidamente dopo una latenza brevissima, ottenni risultati, che senza i precedenti con il cancro, non mi avrebbero dato la dimostrazione sicura del rapporto che io ricercavo.

ESPERIENZE CON IL SARCOMA DEL RATTO.

3 aprile 1912. Innesto sotto cute 2 ratti normali e 3 ratti castrati già dal 14 marzo. Dopo 6 o 7 giorni il tumore è palpabile, ma lo sviluppo nei controlli è molto più notevole che negli animali castrati. Dopo 14 giorni la differenza è così accentuata che il tumore

(1) V. Graf Centrabl f. allg. Path u. Path. an. 20, 1909.

più piccolo dei controlli è ancora doppio del tumore più voluminoso dei ratti castrati. La differenza si mantiene notevole ancora per altri giorni, pur progredendo lo sviluppo dei vari tumori, tranne che in uno dei ratti castrati, nel quale si ha una regressione graduale completa del tumore. Entro i primi giorni di maggio muoiono i ratti portatori di tumore, questo avendo assunto in tutti presso a poco lo stesso sviluppo colossale. Permane invece assenza completa di tumore nel ratto castrato nel quale si è prodotta la regressione.

Questa esperienza pur non avendo dato, come ho premesso, risultati probativi quanto quelli ottenuti con il cancro dei topi, pure li confermano pienamente in quanto vi è stato il notevole ritardo di sviluppo in tutti e tre gli animali castrati e in quanto si è avuta la totale regressione del tumore in uno di essi; fatto questo che non si è mai ripetuto nei molti ratti normali innestati con questo stipite di tumore.

Le mie esperienze concordano dunque tutte nel far ricono scere che alle ghiandole sessuali spetta importanza per lo sviluppo dei tumori e i dati sperimentali trovano appoggio e conferma nei dati clinici, dei quali mi basta ricordarne alcuni. Il Ribbert, per esempio, cita nel suo trattato (Geschwulstlehre 1904 p. 52), la regressione di cancri mammari dopo asportazione delle ovaia. Tutti sanno la influenza che sui miomi dell'utero esercita la castrazione. Si potrebbe qui obiettare che in seguito alla ovariectomia si determina atrofia dell'utero e che questa sia la ragione prima del regredire dei miomi; ma l'ipotesi perde di valore se si considera che la castrazione ha influenza notevole anche sull'ipertrofia della prostata. Un altro fatto di grande interesse è la guarigione che si è ottenuta in vari casi di papilloma infettante delle ovaia, solo quando la castrazione sia stata bilaterale; e degna di riflessione è la statistica pubblicata dal Wertheim, che ottiene il 43 per cento di guarigioni con il suo metodo operativo del cancro dell'utero, in quanto si può chiedersi se il risultato brillante non sia dovuto anche al fatto che con detto metodo si asportano le ovaie. Non insisto oltre nella citazione di argomenti che convalidino i miei risultati sperimen-

tali, in quanto essi concordano pienamente con il moderno indirizzo dello studio dei tumori e con le cognizioni già acquisite sulla loro complicata biologia.

Il considerare il tumore come un qualche cosa di indipendente nelle sue leggi di sviluppo e di accrescimento dall'organismo ospite, come un qualche cosa dotato di una autonomia assoluta, non regge più oggi di fronte ai risultati dell'esperienza fatta con i tumori degli animali. Si è provata la dipendenza dello sviluppo del tumore, dalla razza, dall'età dell'animale, dallo stato di nutrizione di esso e si è ormai sufficientemente provata la possibilità di influire sullo sviluppo del tumore mediante soppressione di singoli organi o iniezione di tessuti. Tuttociò tende ad escludere la opinione del Bashford, che le oscillazioni riscontrabili nella curva di evoluzione di un tumore sieno dovute soltanto a influenze proprie degli elementi del tumore, indipendentemente dall'ospite, e dimostra che il tumore si risente invece delle influenze che l'organismo ospite esercita su di esso per correlazioni umorali ed autorizza ad ammettere ehe le stesse influenze regolatrici dello sviluppo e del metabolismo dell'animale portatore, siano quelle che influiscono sullo sviluppo e sul metabolismo del tumore: un disordine di queste influenze, come il preponderare di una sull'altra, per esempio l'assunzione esagerata di principii chemomorfotici in rapporto con la mancata corrispondente attività limitatrice dello sviluppo, possono determinare quell'abnorme stimolo formativo caratteristico degli elementi neoplastici. Che i tumori si sviluppino preferibilmente su tessuti nei quali vi siano stimoli formativi in atto è dimostrato dai tumori ossei che si sviluppano preponderantemente nell' infanzia e più specialmente nelle epifisi, oppure da quelli che insorgono sul callo osseo. I tumori dell'utero seguono quasi sempre a processi infiammatori cronici. Tumori si sviluppano talvolta sul bordo delle piaghe; in corrispondenza con lesioni lupose o eczemi cronici; insomma prevalentemente là dove è dimostrabile la preesistenza di un abnorme stimolo formativo. Invece nei tessuti ad elementi fissi, come per esempio, nella sostanza nervosa centrale, non sviluppano tumori, ma essi vi si trovano solo congeniti.

Un esempio di virtù limitatrice dello sviluppo dei tumori è rappresentato nelle più recenti esperienze dai risultati ottenuti da molti sperimentatori con l'ablazione della milza o con la iniezione di sua poltiglia. Tutta una serie di ricerche, da quelle di Borrel e Bridré, Woglom, Apolant, a quelle più recenti del Braunstein, Brancati, Lewin e Meidner, ecc., tutte concludono per una maggiore recettività al tumore da parte degli animali splenectomizzati e per una possibile regressione parziale o totale dei neoplasmi in seguito ad iniezione di tessuto splenico. La conclusione naturale di queste esperienze è che la milza eserciti funzione contraria allo sviluppo dei neoplasmi e allora sorge spontanea la riflessione che nell'organismo l'equilibrio di sviluppo, di stato e di funzione è mantenuto da funzioni antagoniste, che fanno sì che ad un eccitamento segua una inibizione; ad una spinta, una limitazione; e se poco si sa del vero ufficio fisiologico delle ghiandole a secrezione interna, ciò deriva dal fatto che poco si conosce delle influenze alterne reciproche, che l'una esercita sull'altra, pel mantenimento dell'equilibrio organico. Ora se noi ammettiamo che alcuni organi (giacchè oltre pel tessuto splenico, anche per altri è stata dimostrata la proprietà inibitrice allo sviluppo dei tumori) possono avere un' influenza ostacolante lo sviluppo degli elementi neoplastici, dobbiamo quasi necessariamente supporre che altri organi possiedano la proprietà opposta e cioè favoriscano il loro sviluppo, regolando o fornendo loro quei principii chemomorfotici necessari per l'accrescimento e la moltiplicazione. E che questi organi possano essere le ghiandole sessuali non è difficile ammetterlo se si ricorda la influenza grande che esse hanno sullo sviluppo dell'organismo e che è superfluo ricordare. I tumori dell' infanzia assumono rapidamente uno sviluppo rigoglioso quale non si riscontra nei tumori degli adulti e di ciò non ci meravigliamo, supponendo appunto che le stesse influenze le quali agiscono sullo sviluppo dei tessuti normali possano agire su quelli neoplastici; dunque può benissimo in tal caso lo sviluppo abnorme essere dovuto all'attività delle ghiandole sessuali considerate nella loro funzione di ghiandole a secrezione interna. Negli adulti, nell'età cioè nella quale prevale il numero di portatori di tu-

more, si può supporre che la secrezione interna delle ghiandole sessuali, ora attive anche come ghiandole a secrezione esterna, venga tutta o preponderantemente utilizzata dai tessuti neoplastici, come quelli che più possono risentirne l'azione. È sempre questa l' ipotesi dell'Ehrlich, della localizzazione di sostanza là dove essa possa esplicare la sua azione.
